

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol diikuti proses invasi ke jaringan sekitar dan penyebarannya (metastatis) ke bagian tubuh yang lain. Sifat utama sel kanker ditandai dengan hilangnya kontrol pertumbuhan dan perkembangan sel kanker tersebut (King, 2000).

Berdasarkan data WHO yang menunjukkan bahwa setiap tahun jumlah penderita kanker di dunia bertambah 6,25 juta orang, dua pertiga dari penderita kanker di dunia berada di negara-negara yang sedang berkembang termasuk Indonesia. Setiap tahunnya, tercatat 100 penderita kanker dari setiap 100.000 penduduk. Data Departemen Kesehatan menunjukkan jumlah penderita kanker di Indonesia mencapai 6 persen dari populasi (Anonim, 2006^c). Di Indonesia, kematian akibat kanker menempati urutan kedua, setelah kematian akibat infeksi. Namun, apabila berbagai penyakit infeksi telah dapat diatasi dan penduduk yang mencapai usia lanjut makin banyak, maka diperkirakan jumlah penderita kanker akan menempati urutan tertinggi (Anonim, 2006^d).

Dewasa ini banyak dikembangkan obat-obatan untuk antikanker baik yang berasal dari bahan kimia maupun yang berasal dari bahan alam yang dikenal sebagai bahan obat-obatan tradisional. Antikanker diharapkan mempunyai toksisitas selektif artinya dapat menghancurkan sel kanker tanpa merusak jaringan normal (Nafrialdi dan Gan, 2002). Obat antikanker yang ideal seharusnya cepat membunuh sel kanker tanpa membahayakan jaringan sehat. Sampai sekarang

belum ditemukan obat-obatan yang memenuhi kriteria demikian. Selain efek sampingnya yang relatif besar, harga obat-obatan tersebut juga mahal sehingga sulit terjangkau sebagian besar masyarakat di Indonesia. Usaha untuk mengobati penyakit kanker dengan obat tradisional semakin banyak dilakukan karena alasan biaya yang lebih murah, lebih mudah didapat, efek samping yang relatif kecil, dan dapat diramu sendiri. Penelitian untuk mendapatkan obat antikanker antara lain dilakukan dengan menggali senyawa-senyawa alam yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, khususnya yang selama ini telah dipercaya oleh sebagian masyarakat sebagai obat tradisional penyakit kanker. Hal tersebut dikarenakan kecenderungan masyarakat untuk kembali ke alam (*back to nature*) semakin tinggi dengan lebih memilih menggunakan obat-obatan tradisional.

Keanekaragaman hayati Indonesia sangat berpotensi dalam penemuan senyawa baru yang berkhasiat sebagai antikanker. Salah satunya adalah genus Piperaceae. Spesies tanaman piper banyak digunakan pada pengobatan tradisional seperti *Piper nigrum* L., *Piper cubeba* L., *Piper retrofractum* Vahl., dan *Piper betle* L.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak alkohol *Piper longum* yang mengandung komponen piperin mempunyai efek toksik terhadap sel DLA (*Dalton's Lymphoma Ascites*) dan sel EAC (*Ehrlich Ascites Carcinoma*) (Sunila dan Kutan, 2003). Buah cabe jawa (*Piper retrofractum* L.) merupakan buah dari tanaman yang satu genus dengan *Piper longum*. Sel Myeloma merupakan sel kanker yang terdapat di dalam sumsum tulang. Sekarang ini banyak terjadi penyakit kanker karena sel Myeloma. Oleh karena itu, perlu diteliti potensi sitotoksik dari buah cabe jawa (*Piper retrofractum* L.) terhadap sel Myeloma.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

- a. Apakah ekstrak etanol 70% buah cabe jawa mempunyai efek sitotoksik terhadap sel Myeloma?
- b. Apakah ekstrak etanol 70% buah cabe jawa mengandung senyawa piperin?

C. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Cabe Jawa

- a. Sistematika tanaman cabe jawa adalah sebagai berikut:

Kedudukan tanaman cabe jawa (*Piper retrofractum* L.) dalam taksonomi adalah sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta
 Subdivisio : Angiospermae
 Classis : Dicotyledoneae
 Ordo : Piperales
 Familia : Piperaceae
 Genus : Piper
 Species : *Piper retrofractum* L.

(Becker and Van den Brink, 1965)

- b. Nama Lain

Cabe Jawa (di Jawa); Cabe' Sula (Madiun); Cabhi Jhamo (Cabia)

(Heyne, 1987)

c. Morfologi

Tanaman ini merupakan tumbuhan memanjat, menahun, mencapai 10 m. Batang keras berkayu, percabangannya dari pangkal batang, cabang-cabangnya lunak dilengkapi dengan akar lekat. Daun bundar memanjang, pangkalnya membentuk jantung dan ujungnya meruncing. Bunganya berkelamin tunggal, tersusun dalam bulir yang tumbuh tegak, bulir jantan lebih panjang daripada bulir betina. Buah berbentuk bulat panjang berwarna kuning atau merah, yang belum masak rasanya pedas tajam, yang sudah masak manis, lembek dan mudah diremas. Buahnya berisi banyak biji yang keras cokelat kehitaman.

(Sudarsono, 1996)

c. Kandungan Kimia

Buahnya mengandung minyak atsiri 0,6-0,7%, alkaloid (piperin) dan suatu senyawa amida. Pada bagian batang dapat ditemukan pula harsa, piperin, pipartin, triacontan dan 2,3-dihydro-stigmasterin, rimpang mengandung piperin 0,2 – 0,25% piperlongumin dan lebih kurang 0,002% piperlonguminin.

(Sudarsono, 1996)

d. Kegunaan

Sebagai bahan obat pada penyakit demam, persalinan kurang lancar, mulas, kejang perut, kolik, beri-beri, keringat tidak keluar, lemah syahwat, daunnya untuk obat kumur (radang mulut), akarnya untuk mengurangi rasa sakit pada radang gusi.

(Sudarsono, 1996)

2. Penelitian tanaman Piper dalam kaitannya dengan kanker

Piper longum diketahui mempunyai efek toksik terhadap sel DLA (*Dalton's Lymphoma Ascites*) dan sel EAC (*Ehrlich Ascites Carcinoma*). LC₅₀ ekstrak alkohol *Piper Longum* sebesar 250 µg/ml untuk sel DLA dan 100 µg/ml untuk sel EAC (Sunila dan Kutan, 2003). Penelitian lain juga ditemukan pada *Piper nigrum* dan *Piper cubeba* yang diketahui mempunyai efek toksik terhadap sel Myeloma dengan IC₅₀ sebesar 51,20 µg/ml untuk *Piper nigrum* dan 76,10 µg/ml untuk *Piper cubeba* (Prarianti dan Nurhayati, 2007).

3. Piperin

Piperin merupakan alkaloid yang bertanggung jawab terhadap rasa dan bau dari lada hitam. Piperin juga digunakan dalam pengobatan tradisional dan sebagai insektisida (Anonim, 2007^b).

Piperin merupakan senyawa amida basa lemah yang dapat membentuk garam dengan asam mineral kuat. Piperin bisa dihidrolisis dengan KOH-etanolik akan menghasilkan kalium piperinat dan piperidin. Oleh sebab itu pada proses isolasi, pemberian KOH-etanolik tidak boleh berlebihan dan harus dalam keadaan panas. Tumbuhan yang termasuk jenis piper selain mengandung 5-9% piperin juga mengandung minyak atsiri berwarna kuning berbau aromatis, senyawa berasa pedas (kavisin), amilum, resin, protein. Senyawa amida (piperin) berupa kristal berbentuk jarum, berwarna kuning, tak berbau, tak berasa, lama-kelamaan pedas, larut dalam etanol, asam cuka, benzen, dan kloroform (Anonim, 2006^b).

4. Kanker

a. Tinjauan Umum Kanker

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol diikuti proses invasi ke jaringan sekitar dan penyebarannya (metastatis) ke bagian tubuh yang lain (King, 2000). Kanker sebenarnya merupakan suatu tumor atau neoplasma, yang terdiri dari tumor jinak (benign, benigna) dan tumor ganas (malignant, maligna, kanker) (Mulyadi, 1997).

Perbedaan antara tumor ganas dengan tumor jinak disamping faktor masa pertumbuhannya adalah bahwa tumor ganas bersifat infiltratif, sedangkan tumor jinak ekspansif. Tumor ganas bersifat residif sedangkan tumor jinak tidak residif. Tumor ganas bersifat metastatif. Perbandingan antara inti sel dengan sitoplasma tumor ganas 1:1 sedangkan tumor jinak 1:4 (sama dengan sel normal). Adanya pleomorfi yaitu bentuk dan ukuran intisel yang berbeda-beda pada tumor ganas, terdapat pula sel datia yaitu sel yang mempunyai inti lebih dari satu. Pada tumor ganas sudah tidak ada anaplasia (dediferensiasi) yang berarti kehilangan polaritas yaitu perbedaan antara bagian atas dengan bawah atau bagian muka dengan belakang (Mulyadi, 1997). Kanker dikenal dengan beragam jenis dan tidak hanya satu organ yang dihindangi namun lebih dari satu seperti limfe, darah, sumsum, dan otak (Tjay dan Rahardja, 1985).

Bentuk-bentuk tumor dinamakan menurut jaringan tempat neoplasma berasal yaitu :

- 1) Adenoma : benjolan maligne pada kelenjar, misalnya pada prostate dan mamma.

- 2) Limfoma : kanker pada kelenjar limfe, misalnya penyakit (non) Hodgkin dan p. Burkitt yang berciri benjolan rahang.
- 3) Sarkoma : neoplasma ganas yang berasal pembuluh darah, jaringan ikat, otot atau tulang, misalnya sindroma Kaposi, suatu tumor pembuluh di bawah kulit tungkai bawah dengan bercak – bercak merah.
- 4) Leukemia : kanker darah yang berhubungan dengan produksi lekosit yang abnormal tinggi dan eritrosit sangat berkurang.
- 5) Myeloma : kanker pada sumsum tulang, misalnya penyakit Kahler (multiple Myeloma) dengan pertumbuhan liar sel-sel plasma di sumsum.
- 6) Melanoma : neoplasma kulit yang luar biasa ganasnya, terdiri dari sel-sel pigmen, yang dapat menyebar dengan pesat (Tjay dan Rahardja., 2002).

Menurut Sukardja (2000), kanker mempunyai berbagai sifat umum, diantaranya adalah :

1) Heterogenitas

Populasi sel dalam suatu tumor tidak homogen, tetapi heterogen, walaupun semula berasal dari satu sel yang sama. Heterogenitas ini terjadi karena sel-sel kanker tumbuh dengan cepat, sehingga belum dewasa, belum matang telah mengalami mitose, telah harus membiak, sehingga makin lama makin banyak keturunan sel yang makin jauh menyimpang dari sel asalnya, yang menimbulkan bentuk yang bermacam-macam.

2) Tumbuh autonom

Sel kanker itu tumbuh terus tanpa batas, liar, semaunya sendiri, terlepas dari kendali pertumbuhan normal sehingga terbentuk suatu tumor yang terpisah dari bagian tubuh normal.

3) Mendesak dan merusak sel-sel normal sekitarnya

Sel-sel tumor itu mendesak sel-sel normal di sekitarnya, yang berubah menjadi kapsel yang membatasi pertumbuhan tumor.

4) Dapat bergerak sendiri

Sel-sel kanker dapat bergerak sendiri seperti amoeba dan lepas dari gerombolan sel-sel tumor induknya, masuk diantara sel-sel normal disekitarnya.

5) Tidak mengenal koordinasi dan batas-batas kewajaran

Ketidakwajaran itu antara lain disebabkan oleh kurang daya adhesi dan kohesi, tidak mengenal kontak inhibisi, tidak mengenal tanda posisi, dan tidak mengenal batas kepadatan.

b. Faktor-faktor penyebab kanker (karsinogen)

Faktor-faktor atau zat-zat yang dapat menyebabkan kanker disebut karsinogen. Faktor-faktor penyebab tersebut antara lain :

1) Bahan Kimia

Tar yang terdapat pada asap rokok dapat menyebabkan kanker paru pada perokok dan perokok pasif. Bahan kimia untuk industri serta asap yang mengandung senyawa karbon dapat meningkatkan kemungkinan seorang pekerja industri menderita kanker.

2) Penyinaran yang berlebihan

Sinar ultra-violet yang berasal dari matahari dapat menimbulkan kanker kulit. Sinar radio aktif dan sinar X yang berlebihan dapat menimbulkan kanker kulit dan leukemia.

3) Virus

Beberapa jenis virus berhubungan erat dengan perubahan sel normal menjadi sel kanker. Jenis virus ini disebut virus penyebab kanker atau virus onkogenik.

4) Hormon

Hormon adalah zat yang dihasilkan kelenjar tubuh yang fungsinya adalah mengatur kegiatan alat-alat tubuh dan selaput tertentu. Pada beberapa penelitian diketahui bahwa pemberian hormon tertentu secara berlebihan dapat menyebabkan peningkatan terjadinya beberapa jenis kanker seperti payudara, rahim, indung telur dan prostat (kelenjar kelamin pria).

5) Rangsangan fisik berulang

Gesekan atau benturan pada salah satu bagian tubuh yang berulang dalam waktu yang lama merupakan rangsangan yang dapat mengakibatkan terjadinya kanker pada bagian tubuh tersebut, karena luka atau cedera pada tempat tersebut tidak sempat sembuh dengan sempurna.

6) Makanan

Zat atau bahan kimia yang terdapat pada makanan tertentu

dapat menyebabkan timbulnya kanker. Makanan yang lama tersimpan dan berjamur dapat tercemar oleh aflatoxin. Aflatoxin adalah zat yang dihasilkan jamur *Aspergillus Flavus* yang dapat menyebabkan risiko terkena kanker hati (Anonim, 1994).

c. Siklus sel

Pertumbuhan sel menunjukkan adanya perubahan ukuran sel dan merupakan hasil akhir dari proses-proses yang berpengaruh pada kehidupan sel tersebut seperti proliferasi, diferensiasi dan kematian sel. Sel kanker sering kali dikatakan sebagai sel yang berproliferasi lebih cepat dibandingkan dengan keadaan normalnya (King, 2000).

Sel kanker dapat berada dalam tiga keadaan yaitu sedang membelah (siklus proliferaatif), dalam keadaan istirahat (tidak membelah), dan secara permanen tidak membelah (Nafrialdi dan Gan, 1995).

Sel kanker yang sedang membelah terdapat dalam 4 (empat) fase, yaitu :

1) Fase Pascamitosis (G_1)

Fase ini dipersiapkan suatu interval dalam proses pembelahan sel, dan dimulai sintesis asam deoksiribonukleat (DNA) (Mulyadi, 1997). Pada fase G_1 , sel anak baru berupa untai tunggal DNA yang terbentuk setelah mitosis akan tumbuh menjadi sel dewasa membentuk protein, enzim, dan sebagainya (Sukardja, 2000).

2) Fase Sintesis DNA (S)

Fase ini merupakan saat terjadinya replikasi DNA. Dalam fase S berlangsung perbaikan DNA yang dapat untuk mencegah

berkembangnya generasi kanker. Fase ini berlangsung kira-kira 6-8 jam (Mulyadi, 1997).

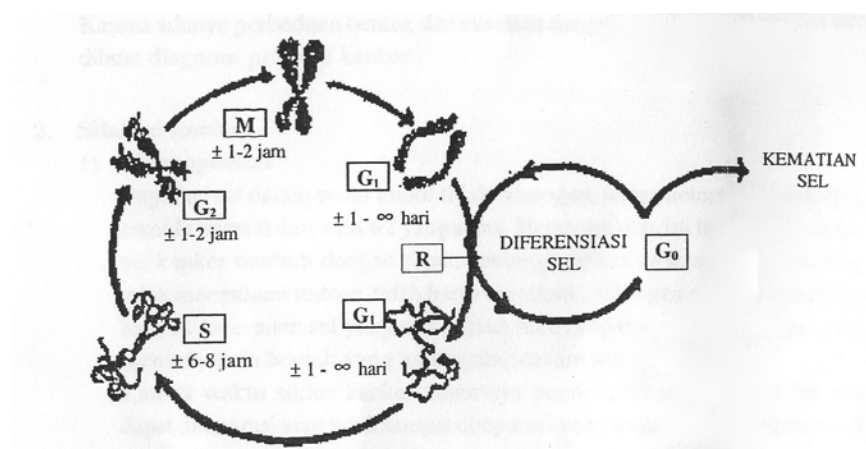
3) Fase Pramitosis (G_2)

Sel yang telah masuk dalam fase pramitosis ini memiliki ciri-ciri : sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak daripada fase lain dan masih berlangsung sintesis RNA dan protein (Nafrialdi dan Gan, 1995).

4) Fase Mitosis

RNA dan protein berkurang secara tiba-tiba, berlangsung pemisahan sel menjadi dua sel anakan dengan sifat dan karakteristiknya yang sama induknya (Nafrialdi dan Gan, 1995). Berdasarkan morfologinya proses ini dapat dibagi menjadi 4 subfase yaitu : profase, metaphase, anaphase dan telofase. Fase ini berlangsung sekitar 30-60 menit (Mulyadi, 1997).

Siklus sel dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Siklus Sel. Siklus sel terdiri dari 4 fase yaitu fase- G_1 , fase-S fase- G_2 dan fase-M

(Sukardja, 2000)

d. Gejala kanker

Pada stadium dini, kanker tumbuh setempat tanpa menimbulkan keluhan ataupun gejala. Hal ini sering menyebabkan orang yang sudah terkena kanker tidak menyadarinya. Bila sudah timbul gejala atau memberi keluhan, biasanya penyakit sudah berlanjut. Oleh karena itu pengenalan gejala kanker perlu dilakukan sedini mungkin, meskipun tidak ada rasa gangguan atau rasa sakit. Mengetahui serangan kanker yang masih stadium dini membuat persentase kesembuhannya semakin besar (Mangan, 2003).

e. Pencegahan dan pengobatan

Pencegahan kanker merupakan upaya untuk mengenali berbagai factor yang dapat menyebabkan timbulnya kanker dan menjadikan faktor-faktor tersebut menjadi tidak efektif (Mangan, 2003). Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain: pembedahan (operasi), penyinaran (radioterapi) dan obat pembunuh sel kanker (khemoterapi) (Mulyadi, 1997).

5. Sel Myeloma

Myeloma adalah suatu kanker sel plasma di mana sebuah clone dari sel plasma yang abnormal berkembangbiak, membentuk tumor di sumsum tulang. Myeloma akan menyebabkan nyeri tulang dan pengeroposan tulang sehingga tulang mudah patah. Myeloma biasanya terdiagnosis setelah penderita mengalami anemia, infeksi bakteri berulang dan gagal ginjal (Anonim, 2004).

Tulang yang sering terkena *Myeloma Multipel* diantaranya adalah tulang iga, sternum, belikat, vertebra, mandibula, dan bisa juga pada tulang panjang (pangkal) (Robianto, 2004).

Sel myeloma pada bentuk yang anaplastik, bentuk selnya besar, memiliki banyak sitoplasma berwarna biru tanpa keputihan perinuklear dan memiliki satu atau lebih inti vesikuler dan cukup besar yang terletak sentral ataupun eksentris dan mungkin mengandung nucleolus. Pada tumor-tumor yang berdiferensiasi lebih baik, sel inti mempunyai bentuk yang lebih kecil (Dorland, 2002).

Menurut Dorland (2000), Myeloma Multipel dapat menyebabkan komplikasi seperti :

- a. Gangguan fungsi ginjal oleh karena banyaknya ekskresi protein, Ca, asam urat.
- b. Sindroma hiperviskositas oleh karena hiperglobulinemi terutama pada tipe IgM.
- c. Hipersensitif terhadap dingin oleh karena adanya krioglobulin.
- d. Perdarahan oleh karena adanya trombositopeni / gangguan fungsi trombosit.
- e. Hiperkalsemi.
- f. Gangguan neurologis.

Turunan sel myeloma pertama kali diambil pada tahun 1967 oleh R. Laskov dan M.D. Scharff dari Merwin Plasma Sel Tumor 011 (MPC-11) yang diisolasi dari mencit Balb/c yang diperoleh dari J. Fahey. Sel tumor ini

diadaptasikan ke dalam kultur secara terus-menerus sampai enam kali dan dipelihara dalam flask yang berisi media Dulbecco's-eagle's dengan asam amino non-esensial dan 20% serum kuda yang in-aktif (Anonim, 1983, *cit* Prawoto, 2004).

Medium pertumbuhan untuk sel myeloma adalah RPMI 1640. Media ini mengandung garam-garam yang diperlukan, asam amino dan vitamin untuk pertumbuhan sel. Beberapa media RPMI mengandung bikarbonat atau hepes, glutamin dan serum sebagai tambahan esensial, dapat juga ditambahkan antibiotik, dan 2-mercapto etanol sebagai bahan tambahan non-esensial (Mahardika, 2003).

6. Sitotoksik

Uji sitotoksik merupakan perkembangan untuk mengidentifikasi obat sitotoksik baru atau deteksi obat dengan aktivitas antitumor. Dasar dari percobaan ini antara lain bahwa sistem penetapan aktivitas biologis seharusnya memberikan kurva dosis respon yang menunjukkan hubungan lurus dengan jumlah sel. Informasi yang diperoleh dari kurva seharusnya berhubungan dengan efek in vivo dari obat sitotoksik yang sama. Sitotoksik senyawa merupakan syarat aktivitas antikanker (Burger, 1970). Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang bersifat toksik pada sel tumor secara in vitro dan jika toksisitas ini ditransfer menembus sel tumor in vivo senyawa tersebut mempunyai aktivitas antitumor (Evans, 2002).

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara in vitro menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Penggunaan uji sitotoksik pada kultur sel merupakan salah

satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat sitotoksik. Sistem ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel. Hasil uji sitotoksik dapat ditentukan nilai IC_{50} yang menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik (Freshney, 1986).

Akhir dari uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat maksimal yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Akhir dari uji sitotoksitas pada organ target memberikan informasi tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle dan Griffiths, 2000).

7. *MTT assay*

MTT assay merupakan suatu metode pewarnaan (suatu metode yang dilakukan dengan pengukuran berdasarkan adanya perubahan warna) untuk mengukur proliferasi sel. Metode ini digunakan untuk menetapkan sitotoksitas dari agen penyembuhan potensial dan bahan-bahan toksik lainnya (Anonim, 2007^a).

MTT kuning adalah (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromida, suatu tipe dari tetrazole) mereduksi formazan ungu dan kemudian cairan yang terlarut ditambahkan untuk mengubah formazan ungu yang tidak larut menjadi cairan berwarna yang dapat dideteksi pada 570 nm oleh spektrofotometer. Proses reduksi ini terjadi hanya ketika enzim mitokondria reduktase aktif, dan perubahan ini secara langsung berhubungan dengan angka sel yang dapat hidup (Mosmann, 1983).

MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromida, suatu tipe dari tetrazole) *assay* didasarkan pada kemampuan enzim

mitokondrial dehidrogenase dari sel hidup dalam pembelahan cincin tetrazolium dari MTT kuning pucat dan bentuk suatu kristal formazan biru gelap yang secara luas tidak dapat menembus membran sel, kemudian menghasilkan susunan tanpa sel yang hidup (Mosmann, 1983).

8. Kromatografi Lapis Tipis

Diantara berbagai jenis teknik kromatografi, Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah yang paling cocok untuk analisis obat di laboratorium farmasi . Metode ini hanya memerlukan investasi yang kecil untuk perlengkapan, menggunakan waktu yang singkat untuk menyelesaikan analisis (15-60 menit), dan memerlukan jumlah cuplikan yang sangat sedikit (kira-kira 0,1 gram). Selain itu, hasil palsu yang disebabkan oleh komponen sekunder tidak mungkin terjadi, kebutuhan ruangan minimum, dan penanganannya sederhana (Stahl, 1985).

Kromatografi lapis tipis merupakan suatu metode pemisahan fisikokimiawi. Lapisannya terdiri atas fase diam yang ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah pelat atau lapisan ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (Stahl, 1985).

a. Fase diam

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi adsorpsi dan adsorben bertindak sebagai fase stasioner. Empat macam adsorben yang

umum dipakai ialah silika gel (asam silikat), alumina (aluminium oxyde), kieselguhr (diatomeous earth), dan selulosa (Adnan, 1997). Dapat dipastikan silika gel paling banyak digunakan. Silika gel ini menghasilkan perbedaan dalam efek pemisahan yang tergantung kepada cara pembuatannya sehingga silika gel G Merck menurut spesifikasi Stahl, yang diperkenalkan tahun 1958, telah diterima sebagai bahan standar (Stahl, 1985).

b. Fase gerak

Fase gerak ialah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Ia bergerak di dalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori, karena ada gaya kapiler. Yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan, sistem pelarut multikomponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen. Angka banding campuran dinyatakan dalam bagian volume sedemikian rupa sehingga volume total 100, misalnya, benzena-kloroform-asam asetat 96 % (50:40:10) (Stahl, 1985).

d. Parameter

Parameter pada kromatografi lapis tipis adalah Retention Factor (R_f), merupakan perbandingan jarak yang ditempuh solute dengan jarak yang ditempuh fase gerak. Adapun rumusnya sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solute (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak (cm)}}$$

Harga R_f umumnya lebih kecil dari 1, sedangkan bila dikalikan dengan 100 akan berharga antara 1-100, sehingga parameter ini dapat

digunakan untuk perhitungan kualitatif dalam pengujian sampel dengan KLT (Sumarno, 2000).

9. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Anonim, 1995). Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut (Anonim, 2006^a). Ragam ekstraksi yang tepat bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang diisolasi (Harborne, 2000).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi (Ansel, 1989).

Cara ekstraksi dilakukan dengan teknik maserari. Tehnik ini dilakukan dengan cara merendam bahan-bahan tumbuhan yang telah dihaluskan/digiling dalam pelarut terpilih, kemudian disimpan dalam jangka waktu tertentu dalam ruang gelap. Tehnik ini biasanya digunakan jika kandungan organik yang ada dalam bahan-bahan tumbuhan tersebut cukup tinggi dan telah diketahui jenis pelarut yang dapat melarutkan dengan baik senyawa-senyawa yang akan diekstraksi atau diisolasi. Kelemahan tehnik ini yakni: adanya kejenuhan

konsentrasi didalam larutan penyari, konsentrasi didalam simplisia dengan didalam penyari sama (Anonim, 1986).

Dalam proses maserasi, rendaman yang berisi simplisia disimpan terlindung dari cahaya langsung dan dikocok kembali (Voight, R. 1995). Maserasi biasanya dilakukan dalam waktu 3 hari sampai bahan-bahan yang larut melarut (Ansel, 1989).

E. Hipotesis

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak alkohol buah dari *Piper longum* yang mengandung komponen piperin mempunyai efek toksik terhadap sel DLA (*Dalton's Lymphoma Ascites*) dan terhadap sel EAC (*Ehrlich Ascites Carcinoma*) (Sunila dan Kutan, 2003). Selain itu, penelitian tentang ekstrak alkohol buah dari *Piper nigrum* dan *Piper cubeba* yang mengandung komponen piperin juga mempunyai efek toksik terhadap sel Myeloma (Prarianti dan Nurhayati, 2007). Dari uraian di atas dapat diambil hipotesis bahwa ekstrak etanol 70% dari buah cabe jawa (*Piper retrofractum* L.) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel Myeloma.